



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**TÍTULO: IMPLICACIÓN DEL IGF-1 EN EL
ENVEJECIMIENTO CARDIOVASCULAR**

Autor: Laura Lluva Dalda.

Tutor: Sara Bedito

Castellote. Convocatoria: Junio

ÍNDICE

Resumen	4
Abstract	4
1. Introducción	5
1.1. Envejecimiento	5
1.2. IGF-1	8
2. Objetivos	12
3. Material y métodos	13
4. Resultados y discusión	13
4.1. Disfunción cardiovascular en pacientes con bajos niveles de IGF-1	13
4.2. Deficiencia en la acción endocrina y paracrina de IGF-1 en el envejecimiento ...	14
4.3. Cardioprotección: protección del miocardio por el IGF-1	14
4.4. Vasoprotección: protección microvascular por el IGF-1	15
4.5. Papel del IGF-1 en la desregulación de Nrf2	17
5. Conclusiones	17
6. Bibliografía	19

ABREVIATURAS

ADMA: NG-NG'-dimetil-arginina asimétrica

Akt: Proteína Kinasa B

AMPc: adenosin monofosfato cíclico

BAD: proteína pro-apoptótica

BH4: tetrahidrobiopterina

COX: Ciclooxygenasa

EDFH: factor hiperpolarizante derivado del endotelio

FoxO1: Forkhead box protein O1

FOXO: Forkhead box

GH: hormona de crecimiento

GLUT-4: transportador de glucosa tipo 4

GPCRs: receptores acoplados a proteínas G

Grb2: Proteína 2 de unión al receptor de factores de crecimiento

GSK-3 β : glucógeno sintasa-3 β

HIF-1 α : factor 1 α inducible por hipoxia

IGF-1: factor de crecimiento tipo insulina 1

IGF-2: factor de crecimiento tipo insulina 2

IGF1R: receptor de IGF-1

IGFBP: proteínas de unión de IGF-1

IR: receptor de insulina

IRS: sustrato del receptor de la insulina

JAK-2: janus kinasa tipo 2

LCR: líquido cefalorraquídeo

MAP-K: proteína kinasa activada por mitógeno

mRNA: ARN mensajero

mTOR: diana de rapamicina en células de mamífero

NADPH: nicotinamida adenina dinucleotido fosfato reducida.

NF-KB: factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas.

NO: Óxido nítrico

NOS: Óxido nítrico sintasa

NOS_e: Óxido nítrico sintasa endotelial

NOS_i: Óxido nítrico sintasa inducible

NOS_n: Óxido nítrico sintasa neuronal

Nrf2: Factor nuclear eritroide 2

NSILA: componentes solubles del suero con actividad análoga a insulina no suprimible

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCNA: antígeno nuclear de células en proliferación

PI3-K: fosfatidilinositol-3-kinasa

PIP2: fosfatidil inositol 3,4 difosfato

PIP3: fosfatidil inositol 3,4,5 trifosfato

RAS: proteína G monomérica

Raf: proteína serin-kinasa

RGH: receptor de hormona de crecimiento

ROS: Especies reactivas de oxígeno

Sch: SH-2 containing domain

SOS: proteínas son of sevenless

STAT: Signal Transducer and Activator Transcription

TKR: receptor tirosina quinasa

VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

RESUMEN

El IGF-1 es un péptido pequeño similar a la insulina que se sintetiza a partir de la GH en muchos órganos y por tanto sus efectos son múltiples, entre ellos destacan el efecto cardioprotector y vasoprotector. Con la edad los niveles de GH disminuyen por cambios en el sistema endocrino lo que produce una disminución en la síntesis de IGF-1 y como consecuencia una alteración en el sistema cardiovascular impidiendo que tengan lugar los efectos citados anteriormente.

Los bajos niveles de IGF-1 se asocian con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares por la disfunción cardiovascular que produce, así como con un envejecimiento cardiovascular acelerado. Según varios estudios la sobreexpresión de IGF-1 puede tener efectos beneficiosos en las células cardíacas progenitoras mejorando o incluso impidiendo el riesgo de insuficiencia cardíaca. Por otro lado la disminución de los niveles circulantes de IGF-1 se asocian con la rarefacción microvascular ya que los efectos antiapoptóticos, proangiogénicos y neurotróficos de dicho factor no se llevan a cabo. Además una deficiencia de IGF-1 está relacionada con un aumento en la producción de ROS y una disminución de la biodisponibilidad de NO promoviendo el envejecimiento vascular.

ABSTRACT

The IGF-1 is a small peptide similar to insulin which is synthesized from GH in many organs and therefore its effects are multiple. Among them are the cardioprotective and vasoprotective effects. With age, the levels of GH decrease due to changes in the endocrine system, which leads to a decrease in the synthesis of IGF-1 and in consequence to a change in the cardiovascular system, preventing occurrence of the effects mentioned previously.

The low levels of IGF-1 are linked to a higher risk of cardiovascular sicknesses, due to the cardiovascular dysfunction it provokes, as well as to an accelerated cardiovascular aging. According to numerous studies, the over expression of IGF-1 can have beneficial effects in progenitor cardiac cells improving or even avoiding the risk of cardiac failure. On the other hand, the decrease in the circulating levels of IGF-1 are linked to the microvascular rarefaction due to the fact that the antiapoptotic, proangiogenic and neurotrophic effects of such factor are not carried out. Also, a deficiency of IGF-1 is related with an increase of ROS production and a decrease in the bioavailability of NO promoting vascular aging.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Envejecimiento

La OMS define envejecimiento como el “proceso fisiológico que comienza en la concepción y ocasiona cambios en las características de las especies durante todo el ciclo de la vida; estos cambios producen una limitación de la adaptabilidad del organismo en relación con el medio. Los ritmos de estos cambios en los diversos órganos de un mismo individuo o en distintos individuos no son iguales”. Queralt (2015) define el envejecimiento como las transformaciones físicas, metabólicas, mentales y funcionales que se producen a lo largo del tiempo, que comportan una disminución de la capacidad de adaptación a los cambios del entorno, y una mayor dificultad para mantener estable el medio interno; esto lleva a un aumento de la vulnerabilidad y de la fragilidad. Este proceso es intrínseco, universal, progresivo, irreversible e inevitable. Muchos autores coinciden con tratarlo como un proceso dinámico, multifactorial e inherente a todos los seres vivos (Alvarado y Salazar, 2014).

Según Moragas (1991) podemos hablar de dos tipos de envejecimiento: envejecimiento primario y envejecimiento secundario. El primer tipo de envejecimiento se produce cuando la persona sufre cambios inevitables asociados a la edad y al paso del tiempo. El envejecimiento secundario viene marcado por diversas disfunciones orgánicas asociadas a malos hábitos a lo largo de la vida, las cuales no forman parte del envejecimiento primario. Hablar de la etapa de la vejez no es hablar de enfermedad, pero es en este periodo en el que aumenta considerablemente la probabilidad de padecer algún tipo de enfermedad.

No existe una razón concreta que explique el porqué envejecemos, probablemente se deba a una serie de factores intrínsecos y extrínsecos que interactúan dando lugar a un declive progresivo del organismo y a una alteración en el equilibrio homeostático (Castanedo et al., 2013) . Existen muchas teorías que tratan de explicar el proceso de envejecimiento primario, la mayoría no se excluyen mutuamente y hasta el presente, no hay evidencia de un único mecanismo responsable de la vejez. Goldstein et al. (1989) las han revisado extensamente y finalmente las han dividido en dos grandes categorías: teorías no estocásticas o deterministas, son las que defienden que el envejecimiento es un proceso programado en el genoma del individuo y las que sugieren el papel de los factores endógenos, como los genes de la longevidad. En los seres humanos no se conocen de forma concreta los genes implicados, aunque se ha observado una correlación entre determinados polimorfismos de algunas proteínas, por ejemplo, apoproteína E2 y enzima de conversión de la angiotensina, y la longevidad (Pérez Arellano, 2006). El otro gran grupo son las denominadas teorías estocásticas o ambientales, fundamentadas en la acumulación casual de sucesos nocivos debido a la exposición a factores exógenos adversos y, por otra parte, fenómenos que implican una serie de variables aleatorias que hacen que este fenómeno sea producto del azar (Hernando, 2006) . Un ejemplo es la teoría de los radicales libres, la

cual establece que el envejecimiento ocurre como consecuencia del daño acumulativo producido por los radicales libres que se liberan como resultado de la respiración (Harman, 1956).

Los cambios asociados al envejecimiento son múltiples, los de alta relevancia se dan en el sistema cardiovascular, renal, nervioso central, locomotor y en el metabolismo (*Tabla 1*).

SISTEMA	CAMBIOS MORFOLÓGICOS	CAMBIOS FUNCIONALES
Cardiovascular	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento de matriz colágena en túnica media - Pérdida de fibras de elastina - Hipertrofia cardiaca: con engrosamiento del septum y sobre todo del ventrículo izquierdo. - Disminución de cardiomiocitos y aumento de matriz extracelular 	<ul style="list-style-type: none"> - Rigidez vascular y cardiaca - Disfunción endotelial - Conservación de la fracción de eyección. - Mayor riesgo de arritmias
Renal	<ul style="list-style-type: none"> - Adelgazamiento corteza renal, el número de nefronas disminuye - Esclerosis arterias glomerulares, por la formación de placas de ateroma en este nivel - Engrosamiento membrana basal glomerular 	<ul style="list-style-type: none"> - Menor capacidad para concentrar orina - Menores niveles de renina y aldosterona - Menor hidroxilación vitD
Nervioso central	<ul style="list-style-type: none"> - Menor masa cerebral: disminución de volumen y de peso - Aumento de LCR - Mínima pérdida neuronal, focalizada. 	<ul style="list-style-type: none"> - Se altera la sensibilidad propioceptiva - Menor velocidad procesamiento - Disminución memoria reciente. - Menor destreza motora
Locomotor	<ul style="list-style-type: none"> - Pérdida de masa muscular - Infiltración grasa del músculo - Cambios morfológicos en el sistema óseo: osteoporosis 	<ul style="list-style-type: none"> - Disminución de fuerza - Fragilidad ósea por pérdida de masa muscular.
Endocrino	<ul style="list-style-type: none"> - Disminuye el número y/o la afinidad de los receptores - Disminuye tamaño, peso y número de células. Aumenta el contenido fibroso 	<ul style="list-style-type: none"> - Desciende la sensibilidad a las hormonas - Disminuye producción de hormonas: disminución GH
Metabolismo Glucosa	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento de grasa visceral - Infiltración grasa de tejidos - Menor masa de células β-pancreáticas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Mayor producción de adipocinas y factores inflamatorios - Mayor resistencia insulínica y predisposición a la diabetes.

Tabla 1: Principales cambios desarrollados durante el envejecimiento

El envejecimiento produce cambios tanto cardiacos como vasculares.

Dentro de los cambios cardiacos la fracción de eyección se mantiene en reposo, al igual que la capacidad máxima de contracción, pero ésta se prolonga un 15-20% con alteración en la relajación, determinando una disfunción diastólica precoz que afecta al llenado ventricular y a la perfusión del miocardio. La frecuencia cardiaca se mantiene en general, aunque con cierta disminución con la edad y tendencia a bradicardia sinusal. Existe incapacidad con el ejercicio físico intenso para lograr frecuencias cardiacas elevadas, y se observa una menor respuesta β 2-adrenérgica por disminución del número de receptores. El gasto cardiaco se mantiene en personas de edad a expensas de aumentar la precarga (Abianza et al., 2012)

Los cambios en la pared vascular determinan el aumento de la presión arterial con el ejercicio, la hipertrofia ventricular y una menor capacitancia de las arterias elásticas que determinan la dificultad para el vaciado ventricular, así como la dilatación aórtica, todo ello porque la pared vascular se vuelve más rígida. Desde el punto de vista funcional hay disminución de la respuesta vascular por envejecimiento del endotelio debido a la disminución de la síntesis de óxido nítrico y de la respuesta a la guanilato ciclasa soluble. Se produce un desequilibrio entre sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras producidas por el endotelio. Este trastorno se caracteriza principalmente por una reducción progresiva en la biodisponibilidad del óxido nítrico (NO) y un aumento en la producción de factores vasoconstrictores derivados de ciclooxigenasa (COX) entre otros. Ambos eventos se relacionan con una mayor producción de radicales libres derivados de oxígeno o especies reactivas de oxígeno (ROS), ambas sustancias vasoconstrictoras. La biodisponibilidad del NO depende de la síntesis a partir de L-arginina por la enzima NO-sintasa (NOS) y a su vez de 3 isoenzimas conocidas de esta enzima: endotelial (NOSe), neuronal (NOSn) e inducible (NOSi). En el envejecimiento se observa un aumento de la NG-NG'- dimetil-arginina asimétrica (ADMA), que es un producto de la metilación de la L-arginina, que funciona como inhibidor endógeno de la NOSe. De igual manera, se produce una disminución de la tetrahidrobiopterina (BH4), que es un cofactor necesario para la síntesis de NO; además existe un aumento de la expresión de NOSi, como mecanismo compensatorio, el cual está relacionado con un fenotipo proateromatoso y con la degeneración de la respuesta vasomotora dependiente del endotelio por causas como el envejecimiento. Otros factores que pueden verse afectados por el deterioro de la función endotelial son el factor hiperpolarizante derivado de endotelio (EDFH), que tiene un carácter compensador en muchos lechos vasculares, produciéndose una mayor liberación de éste cuando hay disminución de NO; la endotelina-1, vasoconstrictora y cuya liberación aumenta cuando existe disfunción del endotelio. Todos ellos se verán afectados en mayor o menor medida por el aumento en la expresión de citocinas proinflamatorias que acompaña al proceso de envejecimiento y que conducirá a la alteración de la expresión y/o la actividad de determinadas enzimas. La presencia de disfunción endotelial en personas ancianas se relaciona no solo con trastornos de índole cardiovascular,

como la aterosclerosis, la enfermedad coronaria, las alteraciones cardiovasculares derivadas de la diabetes mellitus y la hipertensión sistólica aislada, sino también con enfermedades propias del envejecimiento en otros sistemas orgánicos, como la disfunción eréctil, la insuficiencia renal, la enfermedad de Alzheimer, las alteraciones del ciclo circadiano y la osteoporosis (Abianza et al., 2012).

Es importante destacar que con el paso de los años las funciones endocrinológicas también sufren y hay un déficit significativo de la hormona de crecimiento (GH) y del factor de crecimiento tipo insulina 1 (IGF-1) entre otros (Jaeger, 2013).

1.2 IGF-1

Tras la identificación y descripción de dos componentes, “factores de sulfatación” y NSILA (componentes solubles del suero con actividad análoga a insulina no suprimible), en 1976 Rinderknecht y Humbel aislaron dos péptidos activos a partir del suero humano, que debido a su semejanza estructural con la proinsulina se renombraron como factores de crecimiento análogos a la insulina (IGF) tipo 1 (IGF-1) y tipo 2 (IGF-2) (Contreras et al., 2006)

El IGF-1 es un péptido pequeño de 70 aminoácidos de cadena corta, con una masa molecular de 7.649D y dos puentes disulfuro en residuos de cisteínas que le otorgan una estructura tridimensional semejante a la insulina y que explica la interacción con el receptor de insulina, aunque sea una interacción de baja afinidad (*Figura 1A, Figura 1B*).

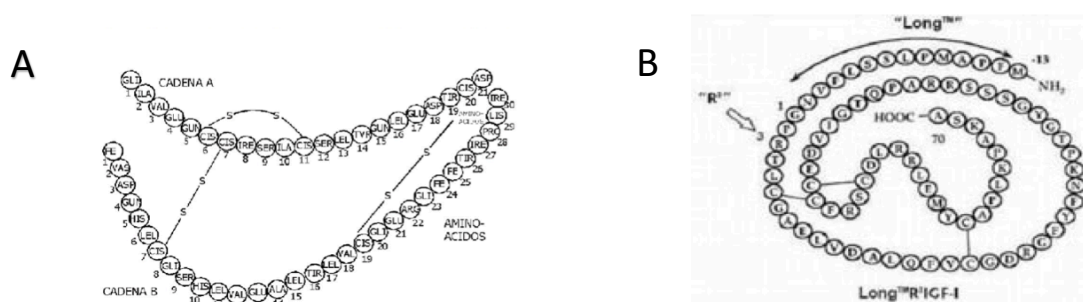


Figura 1: Fórmula estructural de A) insulina humana y B) del IGF-1

El IGF-1 se sintetiza principalmente en el hígado, donde su síntesis está regulada por la secreción hipofisaria de la hormona de crecimiento (GH) (Wrigley et al., 2017). La GH se une a su receptor de membrana (RGH) hepático, con un dominio extracelular de unión al ligando, y un dominio intracelular con actividad catalítica tirosina kinasa, unidos mediante un dominio transmembrana (Navarro, 2005). Tras la unión de GH el receptor se dimeriza, se produce un cambio conformacional responsable del mecanismo de activación del proceso de transducción y se activa el complejo tirosinquinasa JAK-2 citoplasmático (*Figura 2*). Esta activación supone fosforilaciones tanto de las porciones citoplasmáticas

del receptor como de otros complejos proteicos citoplasmáticos como las STAT, que unido al receptor por su porción citoplasmática y fosforilado, se dimeriza y se libera del receptor para realizar sus funciones tanto a nivel citoplasmático como a nivel nuclear, favoreciendo la transcripción génica (Figura 2). Igualmente se activa el complejo RAS-MAPK encargado de los procesos de proliferación y biosíntesis de la célula (Figura 2).

La GH puede ejercer efectos metabólicos directos en los tejidos periféricos. Sin embargo, sus efectos biológicos más relevantes son indirectos y en su mayoría mediados por la estimulación de la expresión hepática de IGF-1, donde se produce mas del 75% de su liberación. El receptor de la hormona de crecimiento (GHR) se expresa ampliamente en el miocardio y la interacción con su ligando estimula la biosíntesis de IGF-1, actuando de manera autocrina y paracrina en el corazón (Wrigley et al., 2017) (Figura 3). El IGF-1 también se sintetiza en muchos otros órganos como pulmón, riñón, intestino

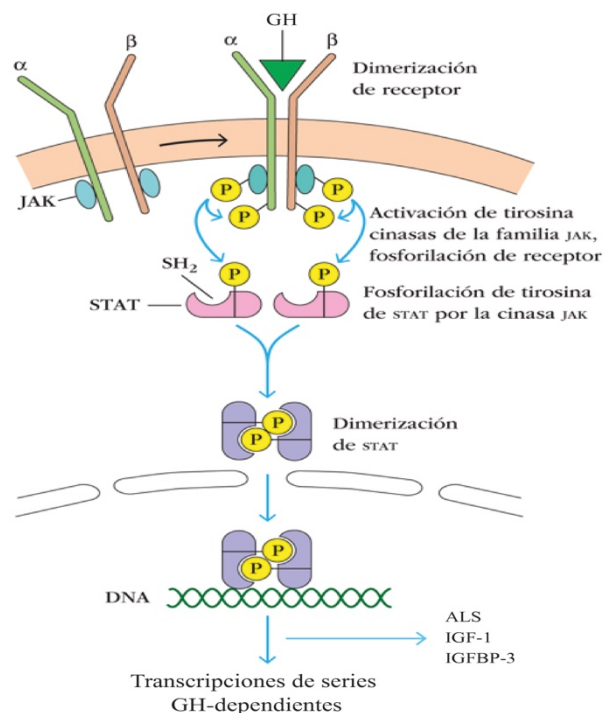


Figura 2: Esquema del mecanismo de activación del RGH modificado de KIndt TJ. et al (2007)

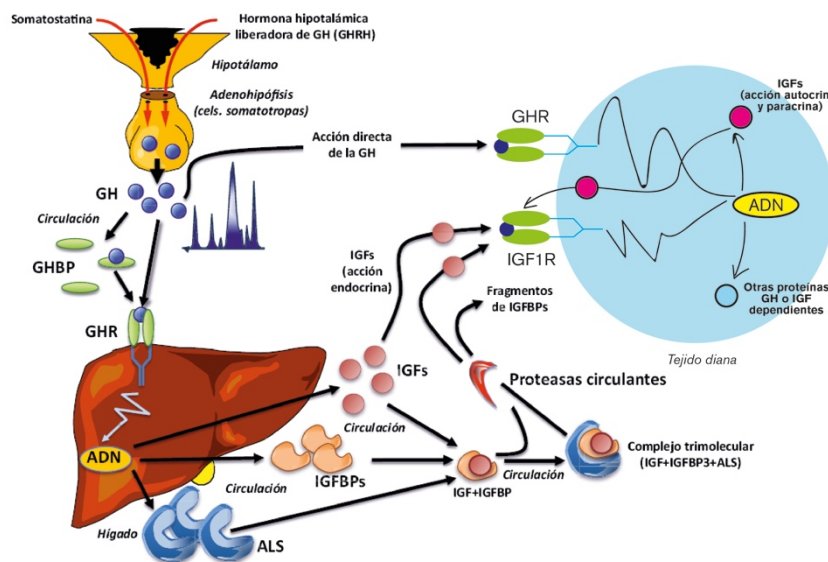


Figura 3: Efecto endocrino, autocrino y paracrino del IGF-1 en el corazón

importante es la IGFBP-3 por ser la de mayor afinidad y concentración plasmática (Baxter, 1994). Dicha proteína es la que modula la interacción entre el IGF-1 y su receptor (IGF1R).

El IGF1R humano es el producto de un gen de copia única que comprende más de 100 kilobases en el cromosoma 15q25-26. Este gen contiene 21 exones y también está relacionado al gen del IR. Tanto IGF1R como IR (receptor de la insulina) son dímeros unidos por puentes disulfuro de la forma $(\alpha\beta)^2$, localizados en la superficie celular. IGF-1R posee una subunidad extracelular y otra intracelular. En la subunidad α , extracelular, es donde se encuentra el dominio de unión a IGF-1. La subunidad β posee un extremo extracelular (extremo aminoterminal) y otro intracelular, el cual tiene actividad tirosina kinasa sobre distintos sustratos celulares endógenos, mecanismo que pone en marcha y en definitiva determina las acciones biológicas de IGF-1 (Rubin et al., 1995). Gracias a su gran homología, IGF-1 también puede unirse al IR, con menor afinidad, como una segunda vía por la que esta hormona puede mediar algunas de sus funciones metabólicas. IGF-1R.

Tras la unión de IGF-1 al IGF-1R, el receptor fosforila proteínas IRS (*insulin receptor substrate*) proteínas Shc (proteínas con grupo SH-2), disparando las dos principales cascadas(moleculares: PI3-K (fosfatidilinositol-3-kinasa) y MAP-kinasa (Rakatzi et al, 2006) (Figura 4).

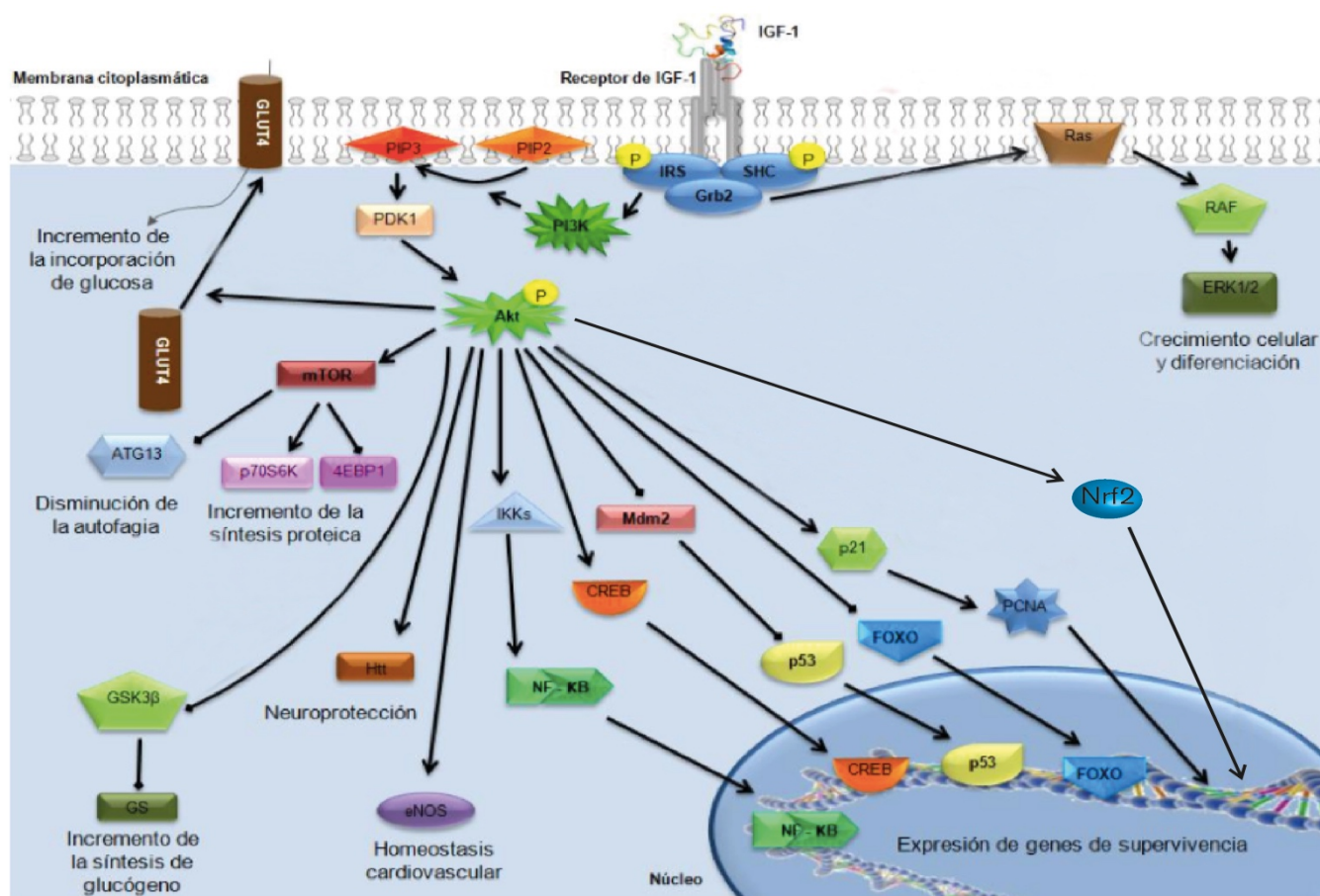


Figura 4: Vías de señalización intracelular de IGF-1 modificado de SABiosciences y Kulik G. Et al, 1997.

La PI3-K pertenece a la familia de enzimas con actividad lípido-kinasa vinculada al crecimiento, supervivencia y proliferación celular, y puede ser activada tanto por receptores con actividad tirosina quinasa intrínseca (TKR) como por receptores acoplados a proteínas G (GPCRs). La unión de IGF-IGF1R desencadena la vía de señalización PI3-kinasa-Akt; una vez se autofosforila el IGF1R se fosforila el sustrato del receptor de la insulina (IRS), el cual fosforila el fosfatidil inositol 3,4 difosfato (PIP2), convirtiéndolo en el segundo mensajero fosfatidil inositol 3,4,5 trifosfato (PIP3), el cual conduce a la activación de la proteína Akt. La activación de Akt promueve el crecimiento celular y la supervivencia ya que actúa sobre numerosas proteínas de la célula, una de esas proteínas es la mTOR (diana de rapamicina en células de mamífero) que incrementa la síntesis proteica y disminuye la autofagia (Wrigley et al., 2017); otras proteínas son CREB (elemento modulador de respuesta a AMPc), FOXO (Forkhead), p53, NF-KB y PCNA que se translocan al núcleo de la célula estimulando la expresión de genes de supervivencia (*Figura 4*). Akt fosforilada también mantiene la homeostasis cardiovascular ya que estimula la eNOS (*Figura 4*). Otro efecto de la activación de IGF1R a través de la señalización PI3-K-Akt es la fosforilación inhibitoria de la glucógeno sintasa quinasa-3 β (GSK-3 β), que se asocia con un incremento de la síntesis de glucógeno (*Figura 4*). La señalización de PI3K-Akt inducida por IGF-1 también está vinculada a la producción de los transportadores de glucosa GLUT-4 y la translocación a las membranas de las células, incrementando la incorporación de glucosa (*Figura 4*).

La vía MAP-kinasa implica el reclutamiento de IRS-1 y Sch del factor SOS, a través del dominio SH2 del adaptador Grb2. Esto implica la activación de la pequeña proteína-G Ras, que a su vez activa la proteína serin-kinasa Raf y la cascada de la kinasa regulada-vía señal extracelular/protein-kinasa activada por mitógeno (ERK/MAPK) (*Figura 4*). El papel de esta cascada en la acción de la insulina/IGF es limitado, aunque ha sido implicado en las vías anti-apoptóticas y la regulación transcripcional (Kermer et al., 2000).

Una vez descritos los mecanismos de acción que puede seguir el IGF-1 al unirse a su receptor resumimos en la tabla 2 los efectos que puede tener este factor incluyendo el efecto cardioprotector.

SISTEMA DIANA	EFFECTOS
Cardiovascular	<ul style="list-style-type: none"> - Desarrollo y protección cardiovascular: aumenta el crecimiento del músculo cardíaco, la contractilidad y el volumen cardíaco. - Vasodilatador: efecto vasoprotector
Sistema nervioso	<ul style="list-style-type: none"> - Desarrollo, mielinización y protección neuronal - Aclaramiento de β-amiloide - Anti-inflamatorio
Músculo esquelético	<ul style="list-style-type: none"> - Desarrollo y crecimiento musculoesquelético

Sistema endocrino (sobre metabolismo de glúcidos, lípidos y proteínas en concentraciones altas)	<ul style="list-style-type: none"> - Aumenta la captación de glucosa y la sensibilidad a la insulina - Disminuye cetonas y triglicéridos - Aumenta la síntesis de proteínas y la masa muscular
Sistema reproductor: testículos y ovarios	<ul style="list-style-type: none"> - Foliculogénesis ovárica - Función e integridad testicular.
Sistema renal	<ul style="list-style-type: none"> - Desarrollo, función e integridad glomerular.
Sistema inmunológico	<ul style="list-style-type: none"> - Desarrollo y función del timo - Hematopoyesis - Función de las células inmunitarias
Placenta	<ul style="list-style-type: none"> - Crecimiento y diferenciación fetal
Mitógeno	<ul style="list-style-type: none"> - Agente cancerígeno (cáncer de próstata)

Tabla 2: Principales efectos del IGF-1 sobre los diferentes sistemas orgánicos

2. OBJETIVOS

Por todo lo expuesto el objetivo general es conocer la implicación del IGF-1 en el envejecimiento cardiovascular. Los objetivos específicos de este trabajo han sido:

1. Describir los principales cambios estructurales y funcionales en el sistema cardiovascular, que el envejecimiento produce sobre el organismo.

2. Determinar los efectos del IGF-1 en el sistema cardiovascular, estudiando el efecto con el paso del tiempo sobre su acción endocrina y paracrina, e identificando las vías de señalización intracelular afectadas.

3. Averiguar si la sobreexpresión de IGF-1 puede producir efectos beneficiosos sobre el sistema cardiovascular.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado una revisión bibliográfica descriptiva de la asociación del factor IGF-1 con el envejecimiento cardiovascular. Para ello se han utilizado las palabras clave: envejecimiento, IGF-1, GH, disfunción endotelial y ROS en los buscadores de internet tales como PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), Scielo (<http://www.scielo.org/php/index.php?lang=es>), Proquest (<http://www.proquest.com/>), Bucea y Cisne (<http://biblioteca.ucm.es/>) obteniendo así artículos científicos a partir de los cuales se analizó la información necesaria.

Así mismo, se consultaron libros de medicina interna, fisiología y fisiopatología pertenecientes a la biblioteca de la Facultad de Farmacia de la UCM, tanto en formato papel como en formato electrónico.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La literatura médica está repleta de evidencias de que los niveles circulantes de IGF-1 disminuyen con la edad, probablemente debido a la significativa disminución en la secreción de GH. Está bien documentado que, en pacientes humanos, la deficiencia de GH y los bajos niveles circulantes de IGF-1 aumentan significativamente el riesgo de enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares (Ungvari y Csiszar, 2012).

4.1. Disfunción cardiovascular en pacientes con bajos niveles de IGF-1

Según varios estudios se ha comprobado que bajos niveles circulantes de IGF-1 están asociados con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares en los seres humanos (Conti et al., 2004; Sesti et al., 2005; Ungvari y Csiszar, 2012). En estudios transversales, la deficiencia de IGF-1 circulante se asoció con la enfermedad coronaria (Spallarossa et al, 1996), así como la capacidad de predecir la cardiopatía isquémica fatal (Laughlin et al., 2004), con un aumento significativo del riesgo de padecer insuficiencia cardíaca isquémica y apoplejía congestiva en pacientes de edad avanzada (Vasan et al, 2003; Johnsen et al., 2005), así como con un peor pronóstico en la recuperación tras un infarto agudo de miocardio (Conti et al., 2001).

Li et al. (2008) y Bailey-Downs et al. (2012) realizaron estudios en los que utilizaron ratones transgénicos con deficiencia de IGF-1 hepático y aclararon que la deficiencia de IGF-1 “per se” puede promover el desarrollo de un fenotipo de envejecimiento cardiovascular acelerado; en concreto, la contractilidad de los miocitos cardíacos se ve significativamente afectada. Este modelo animal también mostró una desregulación de las respuestas antioxidantes dependientes de Nrf2 (Nuclear factor Erythroid) en el sistema vascular, lo que promovió el desarrollo de marcada disfunción endotelial y apoptosis endotelial en presencia de un elevado estrés oxidativo (Bailey-Downs et al., 2012), imitando el fenotipo que acontece durante el envejecimiento.

Del mismo modo, una estrategia complementaria mostró que en ratones de edad avanzada, donde los niveles de IGF-1 están disminuidos, la sobreexpresión cardiaca de IGF-1 mejoró significativamente la función contráctil de los cardiomiocitos (Li et al., 2007), atenuando el estrés oxidativo mediado por el daño a las proteínas, normalizando la homeostasis del Ca^{2+} , revirtiendo la alteración en la expresión de proteínas pro-apoptóticas relacionadas con la edad y disminuyendo la tasa de apoptosis (Li et al., 2007).

4.2. Deficiencia en la acción endocrina y paracrina de IGF-1 en el envejecimiento cardiovascular.

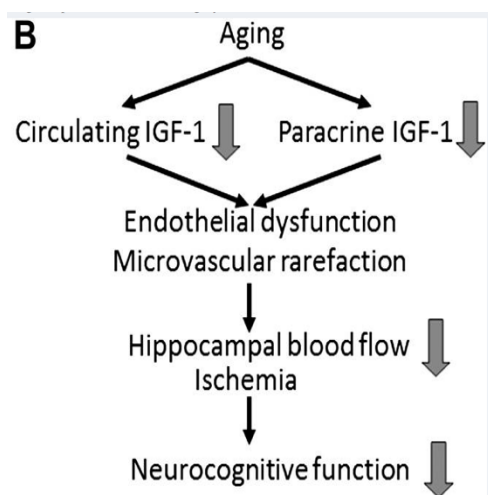


Figura 5: Disminución de la acción endocrina y paracrina de IGF-1 con la edad

Se han publicado estudios que indican que hay una relación inversamente proporcional entre la edad y la acción paracrina de IGF-1 e IGF-1R. Igualmente existe una relación inversa entre la disminución de IGF-1 por la edad y el aumento de HIF-1 α (marcador de hipoxia), lo que da lugar a la rarefacción microvascular, entendiendo como tal el proceso por el que la red microvascular se hace menos densa. Con la edad disminuye la acción endocrina, paracrina y autocrina de IGF-1 y por tanto, predecimos que las alteraciones de dichos sistemas contribuyen significativamente a las alteraciones fenotípicas en el sistema cardiovascular (Figura 6). Al disminuir la acción paracrina, disminuye el efecto vasoprotector y cardioprotector propio del sistema paracrina de IGF-1 (Vinciguerra et al., 2009).

La producción local de IGF-1 también tiene un papel paracrina en la vasoprotección y cardioprotección (Vinciguerra et al., 2009), y una contribución para el mantenimiento de la integridad estructural y funcional de la microvasculatura. Sin embargo, la producción vascular paracrina de IGF-1 no es capaz de compensar la deficiencia de IGF-1 circulante (Ungvari et al., 2010) (Figura 5).

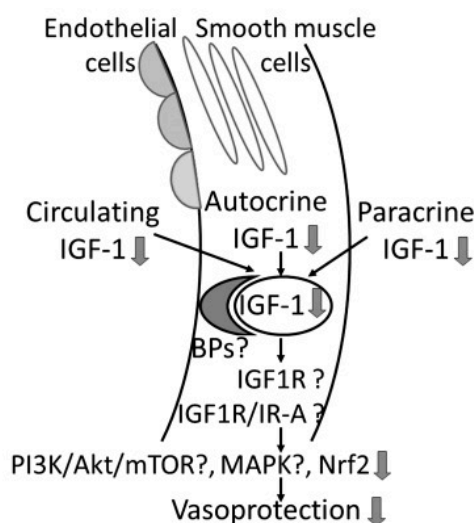


Figura 6: Efectos producidos por la disminución de IGF-1 con la

4.3. Cardioprotección: protección del miocardio por el IGF-1

La sobreexpresión de IGF-1 demostró mejorar la disfunción cardiaca inducida por diabetes y atenuar el estrés oxidativo, además de proteger de la muerte a los cardiomiocitos vivos después de un infarto (Ren et al., 2008). Los datos del Framingham Heart Study (2003) apoyan estos hallazgos

experimentales, mostrando una correlación inversa entre los niveles circulantes de IGF-1 y el riesgo de insuficiencia cardiaca congestiva en los hombres y mujeres de edad avanzada (Vasan et al., 2003). Un envejecimiento cardiovascular exitoso en ancianos saludables se asocia con altos niveles circulantes de IGF-1 (Poalisso et al., 1997).

Las células cardíacas progenitoras poseen un sistema autocrino/paracrino de IGF-1/IGF-1R, los cuales promueven la supervivencia y proliferación de estas células (Urbanek et al., 2005). Los efectos beneficiosos del sistema IGF-1/IGF-1R en células cardíacas progenitoras incluyen efectos antioxidantes, regulación positiva de la actividad de la telomerasa y un retraso en la senescencia replicativa (Torella et al., 2004). La senescencia y muerte de las células cardíacas progenitoras aumenta con la edad, esto conlleva a una disminución gradual en el número de miocitos que eventualmente conducen a la insuficiencia cardiaca en la edad avanzada (Torella et al., 2004). Como ya hemos indicado existen estudios que indican que la sobreexpresión de IGF-1 en el corazón de ratón evita la pérdida de los miocitos cardíacos mediante la protección de células cardíacas progenitoras (Torella et al., 2004), y protegiendo de la muerte celular apoptótica (Leri et al., 1999; Li B. et al., 1999).

4.4. Vasoprotección: protección microvascular por el IGF-1

La microcirculación se encarga de la entrega de nutrientes, el aclaramiento de los metabolitos y el intercambios de los gases entre la sangre y los tejidos. Una adecuada perfusión de la sangre a través de la red de la microcirculación es esencial para la integridad de los tejidos y la función orgánica. Se cree que si se produce una perfusión inadecuada se contribuye a la disfunción de órganos y tejidos en el envejecimiento.

El envejecimiento se asocia con alteraciones funcionales y fenotípicas en la microcirculación, incluyendo la disfunción endotelial, el estrés oxidativo, la inflamación crónica de bajo grado y la rarefacción microvascular. Actualmente, según Ungvari y Csiszar (2012), los niveles circulantes de IGF-1 y los niveles locales de este mismo factor contribuyen al mantenimiento de la integridad funcional y estructural de la microcirculación, al aumento de la biodisponibilidad del NO, a la disminución de la producción de ROS y, ejercen un efecto antiinflamatorio, antiapoptótico y proangiogénico. Por tanto, es lógico suponer que una deficiencia de la acción endocrina y paracrina de IGF-1 contribuye a alteraciones microvasculares asociadas a la edad (Ungvari y Csiszar, 2012).

Varios estudios han demostrado que el envejecimiento está asociado con la rarefacción microvascular en el corazón de rata. El tratamiento con GH aumentó el flujo sanguíneo miocárdico regional y la densidad capilar en ratas de edad avanzada (Khan et al., 2001). Los mecanismos por los cuales IGF-1 revierte y/o previene la rarefacción microvascular y mejora el suministro de sangre a los tejidos es múltiple. La apoptosis es una hipótesis atractiva ya que existen pruebas en roedores de laboratorio que indican que el porcentaje de células endoteliales apoptóticas aumentan con la edad

(Csiszar et al., 2004, 2007; Pearson et al., 2008; Asai et al., 2000). Los datos disponibles sugieren que la alteración de la biodisponibilidad de NO, el incremento de los niveles de TNF- α y del estrés oxidativo mitocondrial promueven la apoptosis endotelial en el envejecimiento (Csiszar et al., 2004, 2007). El IGF-1 tiene importantes efectos antiapoptóticos en el corazón y también inhibe la apoptosis inducida por el estrés oxidativo en células endoteliales (Li Y. et al., 2009). Otros autores aceptan la hipótesis de que la acción endocrina y paracrina de IGF-1 ejerce efectos antiapoptóticos a nivel de la microcirculación y por tanto previene y/o revierte la rarefacción microvascular.

Otro mecanismo, que probablemente contribuya a la rarefacción microvascular es un deterioro relacionado con la edad y la angiogénesis. Se sabe que IGF-1 ejerce efectos proangiogénicos ya que induce la proliferación de células endoteliales microvasculares cerebrales en cultivo a través de HIF-1 α y VEGF (López-López et al., 2004). Se ha confirmado que el IGF-1 ejerce efectos neurotróficos directos, además de efectos angiogénicos que protegen al cerebro de lesiones isquémicas (Schabitz et al., 2001). Estos resultados experimentales coinciden con las observaciones en pacientes con bajos niveles de IGF-1 y que sufren un accidente cerebrovascular. Lo que sugiere que la acción endocrina de IGF-1 afecta a la evolución del infarto cerebral (Denti et al., 2004).

La disminución de las células progenitoras del endotelio relacionada con la edad produce una disminución de las células endoteliales lo que conlleva a una pérdida de su función y por tanto a una peor microcirculación durante el envejecimiento. Es importante destacar que un deterioro de las células progenitoras del endotelio se puede corregir aumentando los niveles de IGF-1 mediados por la GH, lo que puede producir efectos beneficiosos en la capacidad de regeneración del sistema cardiovascular en los seres humanos de edad avanzada (Thum et al., 2007). Zhu G. (2008) estudió que la presencia de suero de ratas jóvenes con niveles altos de IGF-1 en el medio de cultivo mejoró la función de las células progenitoras del endotelio aisladas de ratas envejecidas.

El estrés oxidativo y la disminución de la biodisponibilidad de NO es importante en la rarefacción microvascular. Varios estudios han demostrado que en el envejecimiento una regulación positiva de la NADPH oxidasa y un incremento en la producción mitocondrial de ROS da como resultado un estrés oxidativo en el endotelio microvascular y en las células del músculo liso (Ungvari et al., 2010). El estrés oxidativo relacionado con la edad y la regulación negativa de la eNOS puede alterar la biodisponibilidad del NO, lo que puede producir una disminución de la densidad microvascular. En varios estudios con animales se observó que ratas de edad avanzada con una deficiencia de IGF-1 presentaban una mayor producción de ROS y una disminución de la biodisponibilidad de NO, imitando el fenotipo de envejecimiento vascular (Ungvari et al., 2010; 2011; Bailey-Downs et al., 2011).

4.5. Papel del IGF-1 en la desregulación de Nrf2

El Nrf2 es una proteína de gran alcance que esta latente dentro de cada célula en el cuerpo, incapaz de moverse o funcionar hasta que es liberada por el activador de Nrf2, activado por la vía PI3-K-Akt (Figura 7). Una vez liberada migra al núcleo celular y se une al ADN en la ubicación del elemento de respuesta antioxidante (ARE), o también llamado elemento antioxidante de respuesta humana (HARE) que es el regulador maestro del sistema antioxidante total que está disponible en todas las células de los

seres humanos. Dicho factor es importante en la regulación del proceso de envejecimiento y tiene un papel esencial en la homeostasis celular, en el corazón y en la vasculatura. Ejerce efectos cardioprotectores y vasoprotectores en condiciones fisiopatológicas asociadas con el estrés oxidativo. Una de las características del envejecimiento es un aumento de las ROS con la edad, sin embargo una respuesta activada por Nrf2 hace que se dejen de manifestar estas sustancias en la pared vascular.

Existen evidencias que sugieren que la deficiencia en la acción endocrina de IGF-1 y la disfunción vascular de Nrf2 en el envejecimiento están relacionadas. Bailey-Downs et al. (2011) ha proporcionado evidencias de que en las células endoteliales, IGF-1 activa la Nrf2 a través de una vía dependiente de Akt (Figura 7). Es importante destacar que la desregulación de Nrf2 en los vasos de ratones con niveles de IGF-1 disminuidos, se asocia con una exacerbación del estrés oxidativo celular (Bailey-Downs et al., 2011).

5. CONCLUSIONES

Según datos clínicos y experimentales aportados en diferentes estudios se sugiere que la deficiencia de IGF-1 en personas de edad avanzada hace que el sistema cardiovascular sea mas vulnerable a su disfunción.

1. El aumento de colágeno y la disminución de la elastina con el remodelado cardiovascular se traduce en una menor distensibilidad vascular y cardiaca. La principal alteración vascular consiste en una disfunción endotelial que en global desvía la producción de sustancias vasoactivas hacia aquellas de carácter vasoconstrictor.

2. Los efectos del IGF-1 en el sistema cardiovascular son el crecimiento del músculo cardiaco, el aumento en la contractilidad y del volumen cardiaco, y la vasodilatación. Al producirse una deficiencia de la acción endocrina y paracrina de IGF-1 con la edad, los efectos vasoprotector y

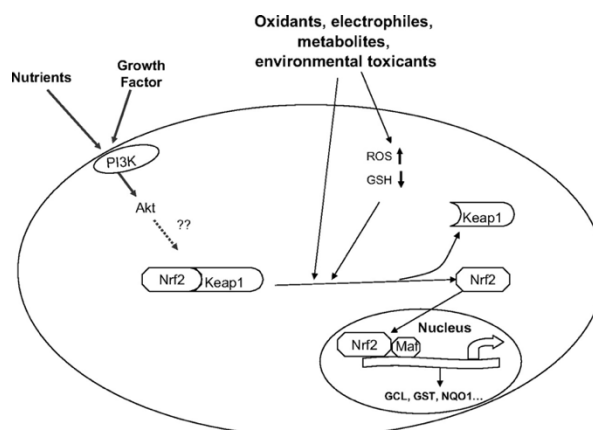


Figura 7: Activación de Nrf2 por la vía PI3-K-Akt

cardioprotector están disminuidos. La vía de señalización principal que resulta afectada es la PI3-K, que da como resultado una disminución de Nrf2 y por tanto una exacerbación del estrés oxidativo.

3. La sobreexpresión de IGF-1 mejora la disfunción cardíaca, atenúa el estrés oxidativo, protege a las células progenitoras cardíacas y las endoteliales. Por tanto, niveles altos de IGF-1 pueden producir efectos beneficiosos y asociarse con un retraso en el envejecimiento.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Abianza P, Romero L, Luengo C, Sánchez PM, Jordán J. Cambios fisiológicos en los sistemas corporales durante el envejecimiento en Medicina Geriátrica: Una aproximación basada en problemas pp 31-36. Elsevier Masson, 2012.
2. Alvarado, AM y Salazar, AM. Análisis del concepto de envejecimiento. *Gerokomos*. 2014; 25(2): 57-62
3. Asai K, Kudej RK, Shen YT, et al. Peripheral vascular endothelial dysfunction and apoptosis in old monkeys. *Atheroscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20: 1493-1499
4. Bailey-Downs LC, Mitschelen M, Sosnowska D, Toth P, Pinto JT, Ballabh P, Valcarcel-Ares MN, Farley J, Koller A, Henthorn JC, et al: Liver-specific knockdown of IGF-1 decreases vascular oxidative stress resistance by impairing the Nrf2- dependent antioxidant response: a novel model of vascular aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2012. 67A (4): 313-329
5. Ballerini MG, Ropelato MG. El receptor de la hormona de crecimiento humana (hGH) y la proteína de transporte de alta afinidad de la hGH. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo*. 2008. 45(1): 28-46
6. Baxter R.C. Insulin-like growth factor binding proteins in the human circulation: a review. *Horm Res*. 1994; 42(4-5):140-144
7. Castanedo C, Sarabia CM. Biología del envejecimiento en Enfermería en el envejecimiento pp: 1-5. 2013.
8. Conti E, Andreotti F, Sciahbasi A, Riccardi P, Marra G, Menini E, Ghirlanda G, Maseri A: Markedly reduced insulin-like growth factor-1 in the acute phase of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2001; 38(1): 26-32
9. Conti E, Carrozza C., Capoluongo E. et al., Insulin-like growth factor-1 as a vascular protective factor. *Circulation*. 2004; 110: 2260-2265
10. Contreras A, Aránguez P, Díaz J, Chiong M, Muñoz JP, Parra V, Ibarra C, Rojas D, Troncoso R, Eisner V, Salas D, Rodríguez A, Carrasco L, Díaz-Araya G, Lavandero S. IGF-1: Un factor de crecimiento con acciones cardiovasculares pleiotrópicas. *Revista Chilena de Cardiología*. 2006; 25(3): 317-328
11. Csiszar A, Ungvari Z, Koller A, Edwards JG, Kaley G, Proinflammatory phenotype of coronary arteries promotes endothelial apoptosis in aging. *Physiol. Genomics*. 2004; 17(1):21-30
12. Csiszar A, Labinsky N, Smith K, Rivera A, Orosz Z, Ungvari Z. Vasculoprotective effects of anti-TNF- α treatment in aging. *Am J Pathol*. 2007; 170(1): 388-698

13. Deniis L. Kasper, MD; Stephan L. Hauser, MD; J. Larry Jameson, MD, PhD; Anthony S. Fauci, MD; Dan L. Longo, MD; Joseph Loscalzo, MD, PhD. Biología del envejecimiento en Harrison principios de medicina interna pp: 457-458. McGraw-Hill. 2015
14. Denti L, Annoni V, Cattadori E, et al. Insulin-like growth factor 1 as a predictor of ischemic stroke outcome in the elderly. *Am J Med.* 2004; 117(5): 312-7
15. Goldstein S, Gallo JJ, Recihel W: Biologic theories of aging. *Am Gram Pgysician.* 1989; 40(3): 195-200
16. Harman D. Aging: a theory based of free radical and radiation chemistry. *J Gerontol.* 1956; 11(3): 298-300
17. Hernando MV. El fenómeno del envejecimiento. *Dialnet.* 2006; 11(3): 37-64
18. Jaeger, C. Fisiología del envejecimiento. *EMC-Kinesiterapia–medicina física.* 2011; 32(3): 1-8
19. Johnsen SP, Hundborg HH, Sorensen HT, Orskov H, Tjonneland A, Overvad K, Jorgensen JO: Insulin-like growth factor (IGF) I, -II, and IGF binding protein-3 and risk of ischemic stroke. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(11):5937–5941.
20. Kermer P, Klöcker N, Labes M, Bähr M. Insulin-Like Growth Factor-I Protects Axotomized Rat Retinal Ganglion Cells from Secondary Death via PI3-K-epondent Akt Phosphorylation and Inhibition of Caspase-3 In Vivo. *The Journal of Neuroscience* 2000; 20(2): 722–8.
21. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. Citocinas en Inmunología de Kuby pp: 303-326. 2006
22. Kulik G, Klippel A, Weber MJ. Antiapoptotic Signalling By The Insulin-Like Growth Factor I Receptor, Phosphatidylinositol 3-Kinase, and Akt. *Molecular And Cellular Biology* 1997; p:1595–1606.
23. Khan AS, Lynch CD, Sane DC, Willingham MC, Sonntag WE. Growth hormone increases regional coronary blood flow and capillary density in aged rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2001; 56(8): B364-71
24. Laughlin GA, Barrett-Connor E, Criqui MH, Kritz-Silverstein D: The prospective association of serum insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein-1 levels with all cause and cardiovascular disease mortality in older adults: the Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(1): 114-20
25. Leri A, Liu Y, Wang X, et al. Overexpression on insulin-like growth factor-1 attenuate the myocyte renin-angiotensin system in transgenic mice. *Circ Res.*1999; 84: 1007-1019
26. Li B, Setoguchi M, Wang X, et al. Insulin-like growth factor-1 attenuates the detrimental impact of nonocclusive coronary artery constriction on the heart. *Circ Res.* 1999; 84: 1007-1019

27. Li Q, Li B, Wang X, et al. Overexpression of insulin-like growth factor-1 in mice protects from myocyte death after infarction, attenuating ventricular dilation, Wall stress, and cardiac hypertrophy. *J Clin Invest.* 1997; 100: 1991-1999
28. Li Q, Ren J: Influence of cardiac-specific overexpression of insulin-like growth factor 1 on lifespan and aging-associated changes in cardiac intracellular Ca^{2+} homeostasis, protein damage and apoptotic protein expression. *Aging cell.* 2007; 6: 799-806
29. Li Q, Ceylan-Isik AF, Li J, Ren J: Deficiency of insulin-like growth factor 1 reduces sensitivity to aging-associated cardiomyocyte dysfunction. *Rejuvenation Res.* 2008; 11: 725-733
30. Li Y, Wu H, Khardori R, Song YH, Lu YW, Geng YJ. Insulin-like growth factor-1 receptor activation prevents high glucose-induced mitochondrial dysfunction, cytochrome-C release and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009; 384(2): 259-263
31. López-López C, LeRoith DC, Torres-Aleman I. Insulin-like growth factor I is required for vessel remodeling in the adult brain. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101(26): 9833-8
32. Moragas R, 1991. Envejecimiento en Gerontología social: envejecimiento y calidad de vida. Herder 1991
33. Navarro D. Receptor de Insulina y Receptor de la hormona de crecimiento en Hormonas y cáncer : señalización celular básica. *BioCancer.* 2005.
34. Nedic O., Nikolic J. A., Baricevic I., Jovanovic B. and Ilic N. Insulin-like growth factors in patients with liver cysts. *J Clin Lab Anal.* 2004; 18(6): 299-304
35. Pearson KJ, Baur JA, Lewis KN, et al. Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. *Cell metab.* 2008; 8(2):157-168
36. Pérez JL. Envejecimiento. Aspectos fisiológicos y patológicos en Manual de patología general pp 133-139. 6ª edición. Masson 2006
37. Poalisso G, Amendola S, Del Buono A, et al. Serum levels of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and IGF-binding protein-3 in healthy centenarians: relationship with plasma leptin and lipid concentrations, insulin action, and cognitive function. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82(7): 2204-9
38. Queralt, M. Envejecimiento: cambios biológicos, cambios funcionales. 2013. Disponible en <https://www.alzheimeruniversal.eu/2013/10/01/envejecimiento-cambios-biologicos-cambios-funcionales/>
39. Rakatzi I, Stosik M, Gromke T, Siddle K, Eckel J. Differential phosphorylation of IRS-1 and IRS-2 by insulin and IGF-I receptors. *Arch Physiol Biochem.* 2006; 112(1): 37-47

40. Ren J., Duan J, Thomas DP, et al. IGF-1 alleviates diabetes-induced RhoA activation, eNOS uncoupling, and myocardial dysfunction. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008; 294: 793-802
41. Rubin R. and Baserga R. Insulin-like growth factor 1 receptor. Its role in cell proliferation, apoptosis, and tumorigenicity. *Lab Invest*. 1995; 73(3): 311-31
42. Salech M, Felipe; Jara L, Rafael; Michea A, Luis. Cambios fisiológicos asociados al envejecimiento. *Rev Med Clin Condes*. 2012; 23(1): 19-29
43. Sesti G, Sciacqua A, Cardellini M, Marini MA, Maio R, Vatrano M, Succurro E, Lauro R, Federici M, Perticone F: Plasma concentration of IGF-I is independently associated with insulin sensitivity in subjects with different degrees of glucose tolerance. *Diabetes Care*. 2005; 28(1): 120-5
44. Shabitz WR, Hoffman TT, Heiland S, et al. DElayed neuroprotection effect of insulin-like growth factor-I after experimental transient focal cerebral ischemia monitored with mri. *Stroke*. 2001; 32: 1226-1233
45. Spallarossa P, Brunelli C, Minuto F, Caruso D, Battistini M, Caponnetto S, Cordera R: Insulin-like growth factor-I and angiographically documented coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 1996; 77(2): 200-202
46. Thum T, Hoeber S, Froese S, et al. Age-dependent impairment of endothelial progenitor cells is corrected by growth-hormone-mediated increase of insulin-like growth factor-1. *Circ Res*. 2007;100(3); 434-443
47. Torella D, Rota M, Nurzynska D, Musso E, Monsen A, Shiraishi I, Zias E, Walsh K, Rosenzweig A, Sussman MA, et al: Cardiac stem cell and myocyte aging, heart failure, and insulin-like growth factor-1 overexpression. *Circ Res*. 2004; 94(4); 514-524
48. Ungvari Z, Gautam T, Koncz P, Henthorn JC, Pinto JT, Ballabh P, Yan H, Mitschelen M, Farley J, Sonntag WE, et al: Vasoprotective effects of life span- extending prepubertal GH replacement in Lewis dwarf rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2010; 65A(11): 1145-1156
49. Ungvari Z, Kaley G, de Cabo R, Sonntag WE, Csiszar A: Mechanisms of vascular aging: new perspectives. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2010; 65(10): 1028-1041
50. Ungvari, Z and Csiszar, A. The emerging role of IGF-1 Deficiency in Cardiovascular Aging: Recent Advances. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2012; 67A(6): 599-610
51. Urbanek K, Rota M, Cascapera S, Bearzi C, Nascimbene A, De Angelis A, Hosoda T, Chimenti S, Baker M, Limana F, et al: Cardiac stem cells possess growth factor-receptor systems that after activation regenerate the infarcted myocardium, improving ventricular function and long-term survival. *Circ Res*. 2005; 97(7): 663-673

52. Vasan RS, Sullivan LM, D'Agostino RB, Roubenoff R, Harris T, Sawyer DB, Levy D, Wilson PW: Serum insulin-like growth factor I and risk for heart failure in elderly individuals without a previous myocardial infarction: the Framingham Heart Study. *Ann Intern Med.* 2003; 139(8): 642-708
53. Vinciguerra M, Santini MP, Claycomb WC, Ladurner AG, Rosenthal N: Local IGF-1 isoform protects cardiomyocytes from hypertrophic and oxidative stresses via SirT1 activity. *Aging (Albany NY).* 2009; 2(1): 43-62
54. Wrigley S, Arafa D, Tropea D. Insulin-like growth factor 1: At the Crossroads of Brain Development and Aging. *Front Cell Neurosci.* 2017; 11(14): 1-15
55. Zhu G, Song M, Wang H, et al. Young environment reverses the declined activity of aged rat-derived endothelial progenitor cells: involvement of the phosphatidylinositol-3kinase/Akt signaling pathway. *Ann Vasc Surg.* 2009; 23(4):519-535